

SERUM METABOLITES AS MOLECULAR PREDICTIVE MARKERS OF OVARIAN RESPONSE TO CONTROLLED STIMULATION: A PILOT STUDY

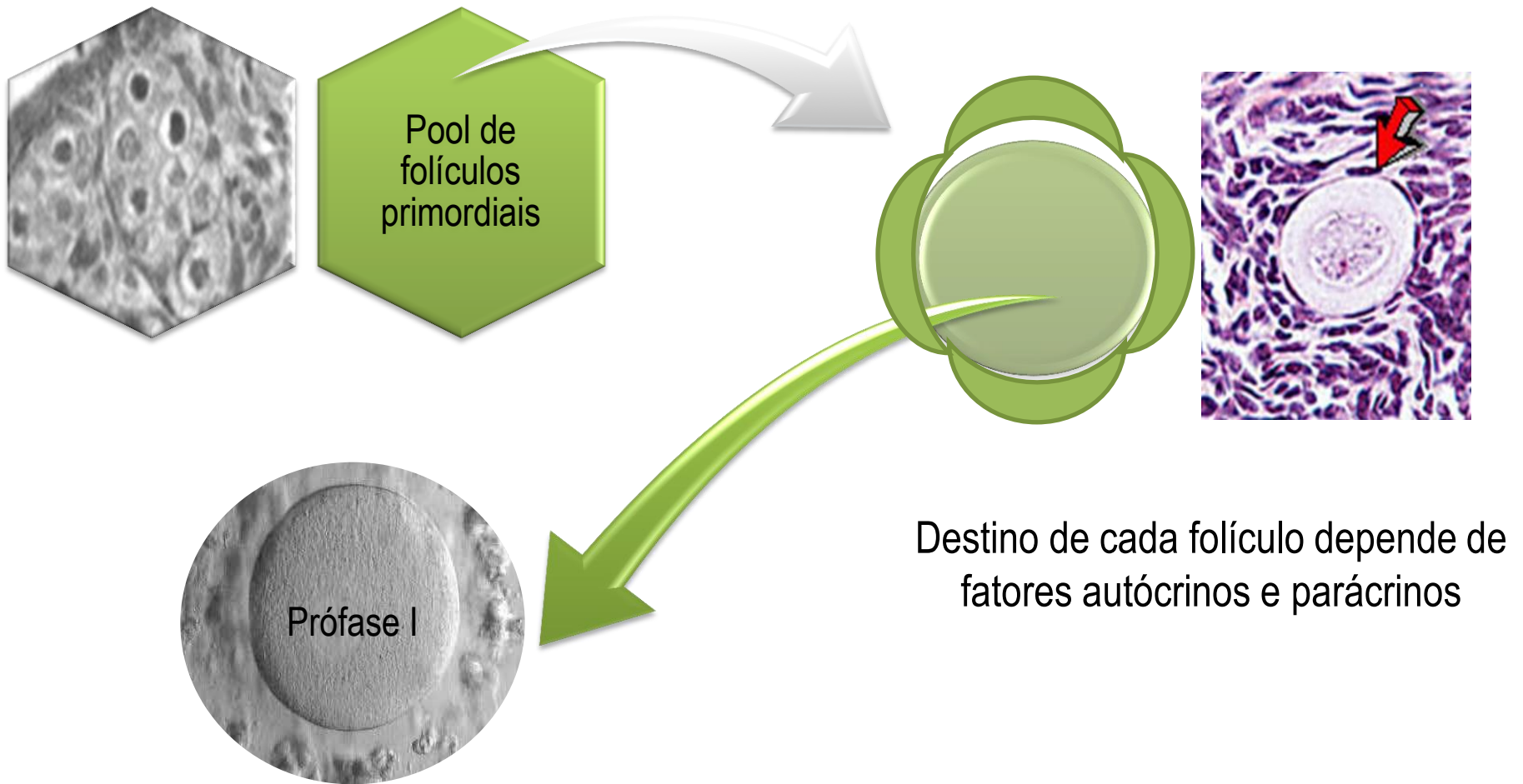
Edson Borges Jr; Daniela Antunes Montani; Amanda Souza Setti; Bianca Ferrarini Zanetti; Rita de Cássia Sávio Figueira; Assumpto Iaconelli Jr. ; Diogo de Oliveira Silva; Daniela Paes de Almeida Ferreira Braga



FERTILITY
MEDICAL GROUP



INTRODUÇÃO



INTRODUÇÃO

POOL DE
FOLÍCULOS
PRIMORDIAIS

400 maturam durante a
vida

18 semanas de gestação
($6-7 \times 10^6$ oócitos)

Ao nascimento
($1-2 \times 10^6$ oócitos)

Puberdade
(300 000 oócitos)

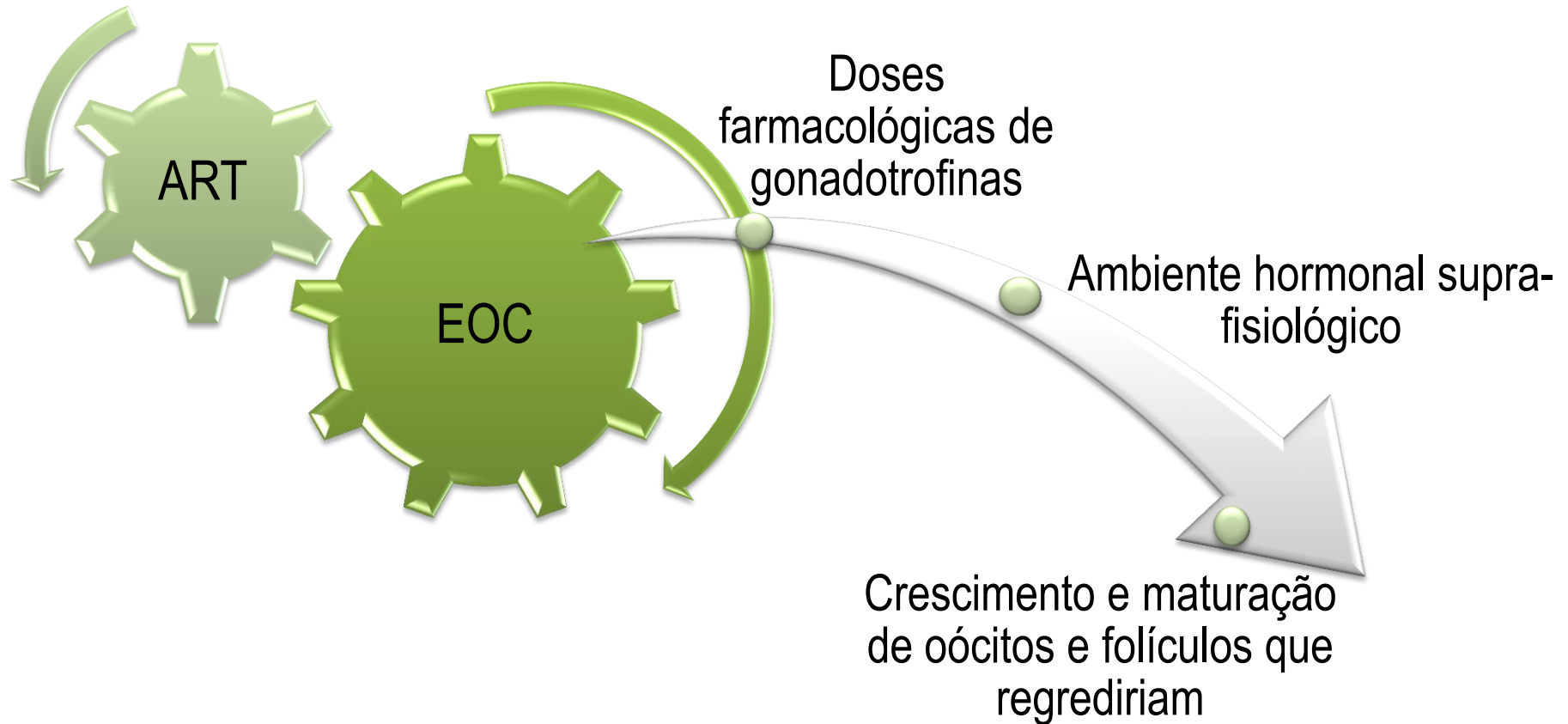
Menopausa
(< 1000 oócitos)



FERTILITY

INTRODUÇÃO

✓ Estímulo ovariano controlado

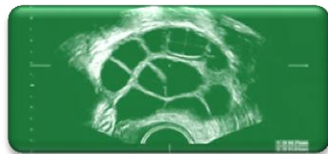


INTRODUÇÃO

✓ Estímulo ovariano controlado



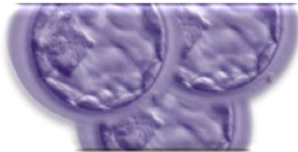
Etapa essencial para fertilização in vitro



Desenvolvimento de múltiplos folículos



Recuperação de múltiplos oócitos



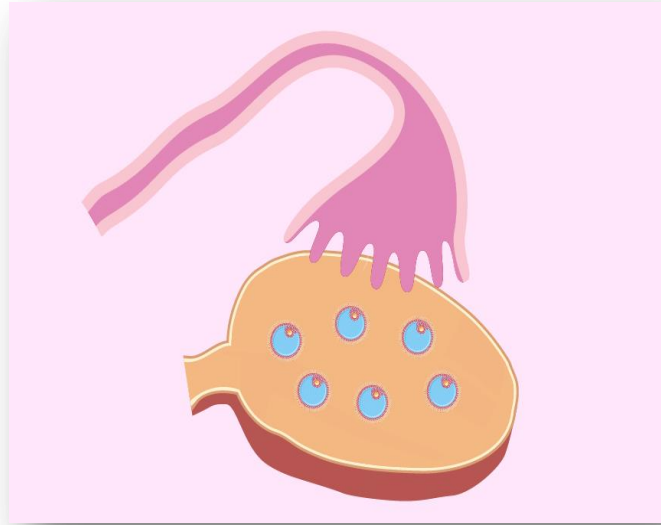
Seleção do melhor embrião



FERTILITY

INTRODUÇÃO

✓ Estímulo ovariano controlado



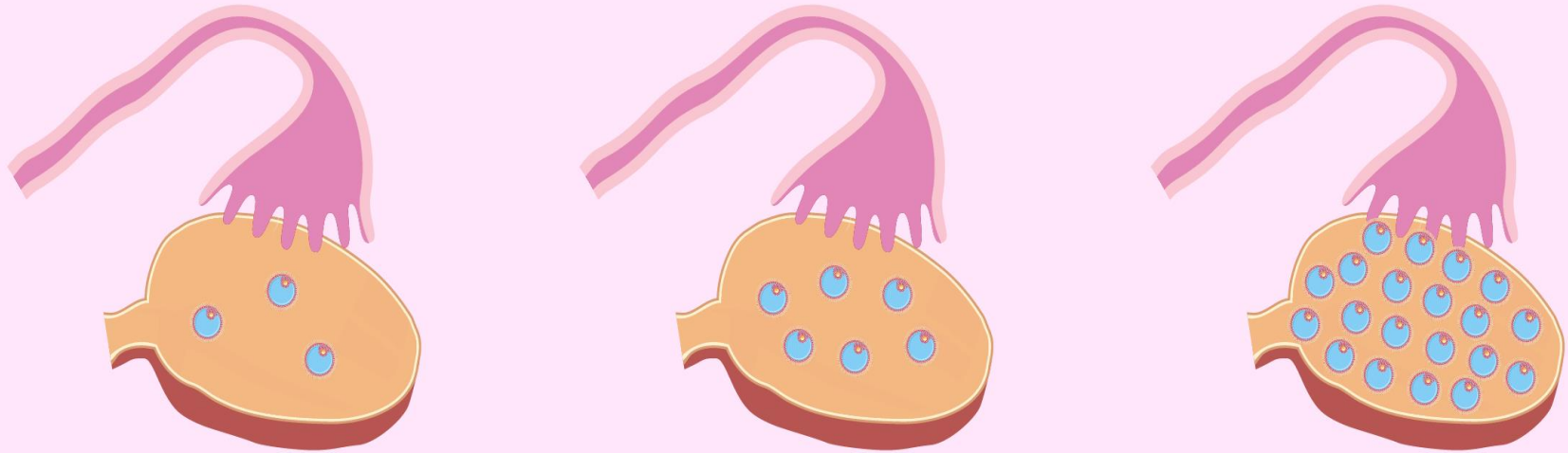
Resposta
apropriada



5 a 14 oócitos

INTRODUÇÃO

✓ Estímulo ovariano controlado



Pobre resposta



Normo resposta



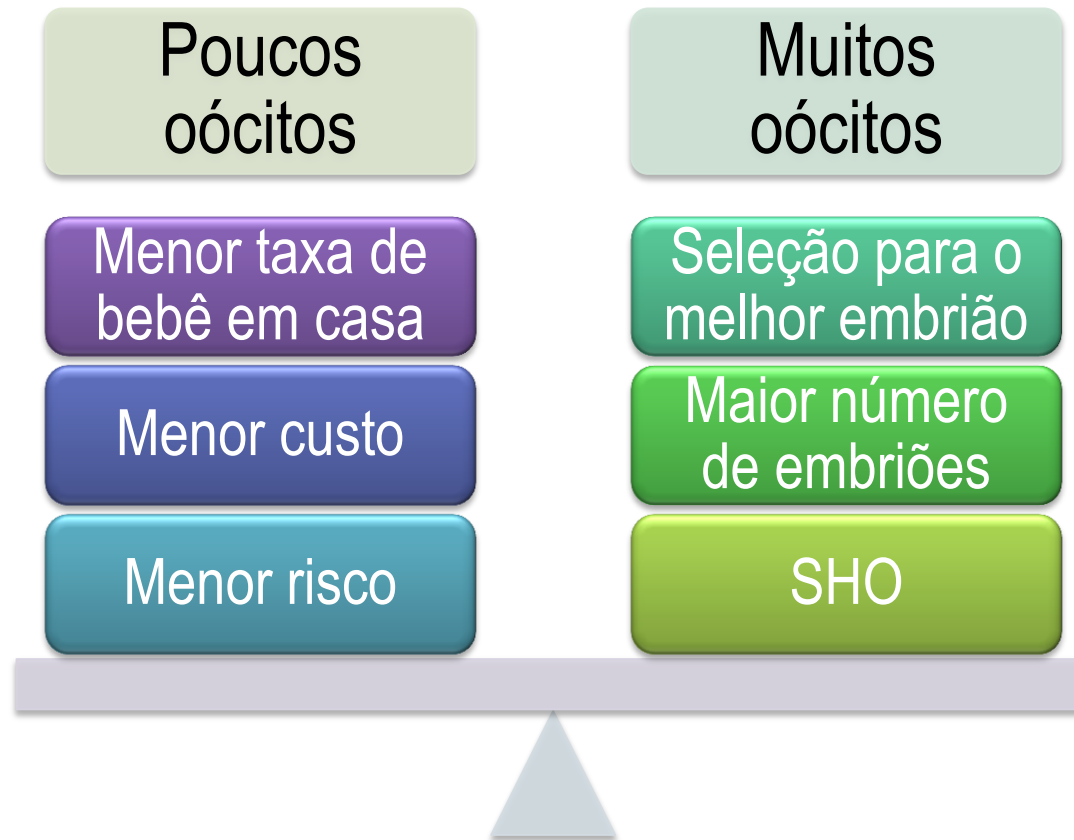
Hiper-resposta



FERTILITY

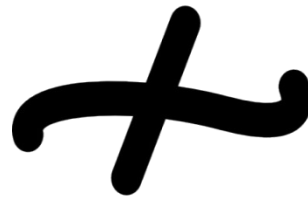
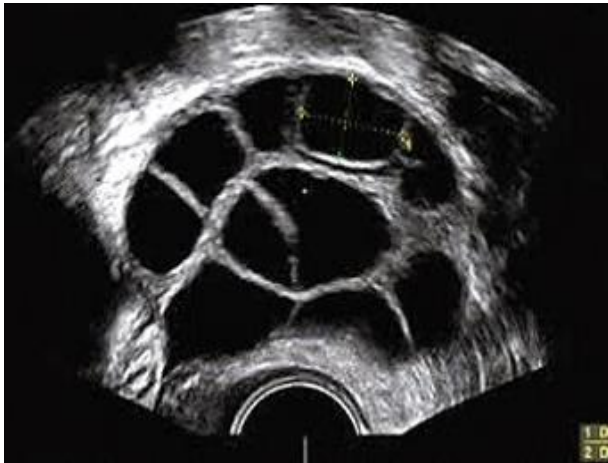
INTRODUÇÃO

✓ Estímulo ovariano controlado: Diferentes protocolos



INTRODUÇÃO

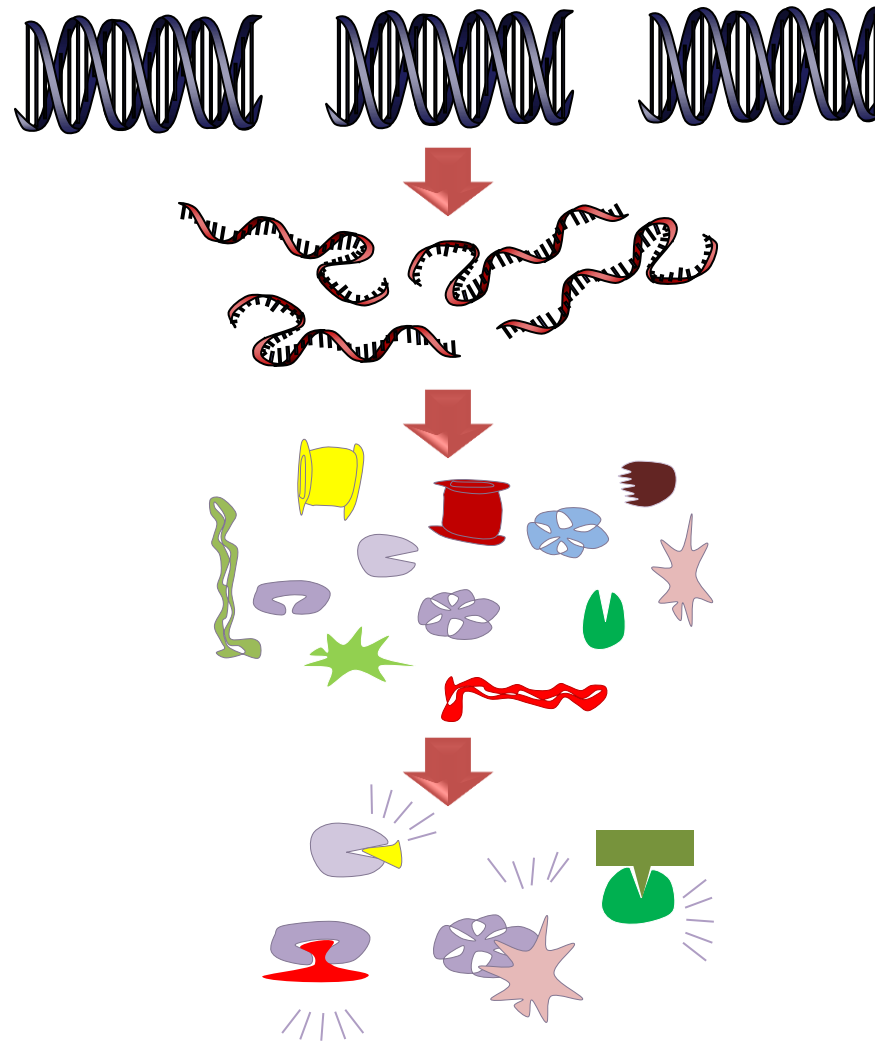
- ✓ É quase impossível prever com precisão a resposta ovariana e adaptar um protocolo de estimulação individualizado



O desenvolvimento de técnicas não invasivas, capazes de prever a resposta ao EOC podem ser úteis

INTRODUÇÃO

✓ Omics



INTRODUÇÃO

METABOLÔMICA

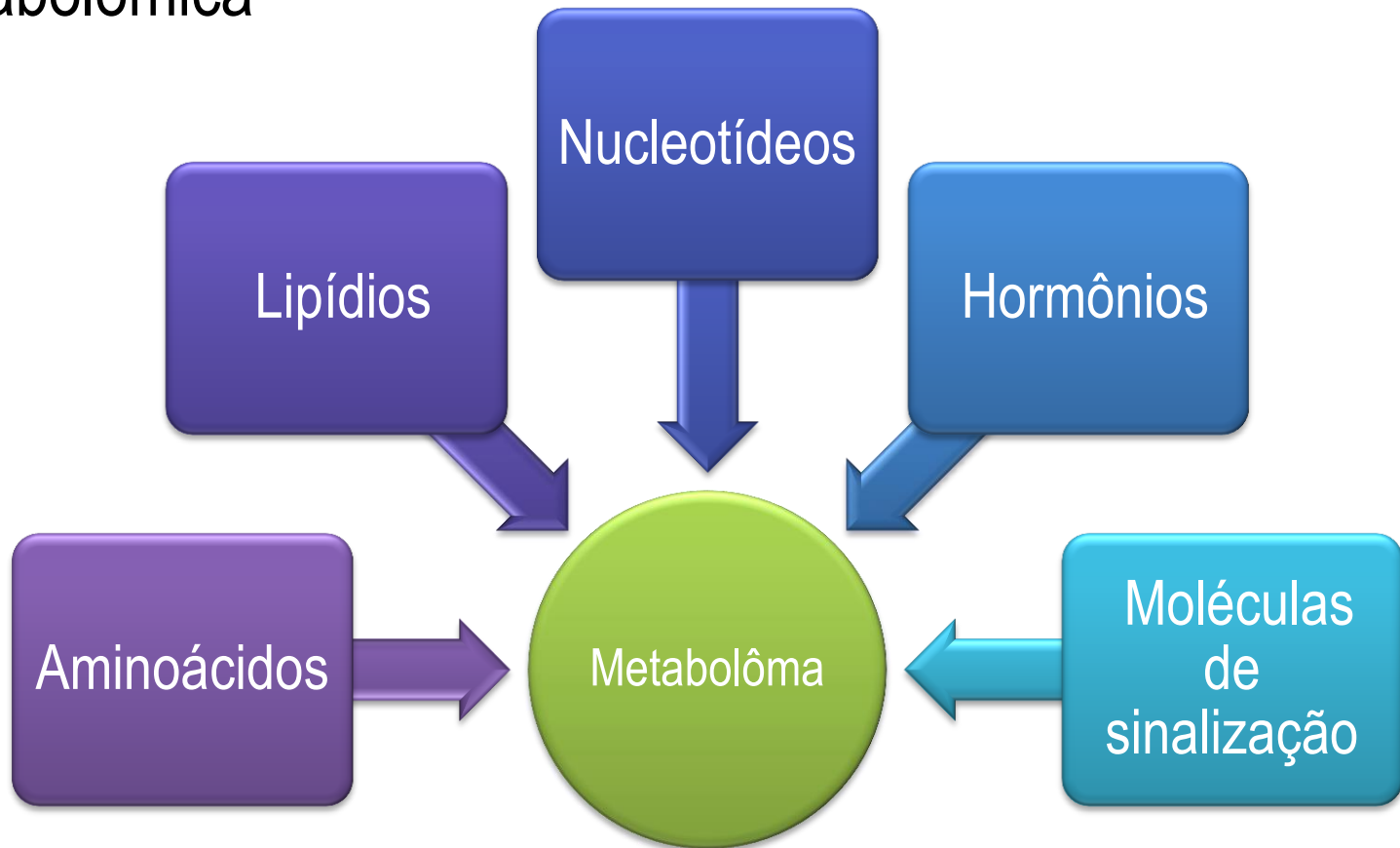
Estudo abrangente das mudanças dinâmicas do organismo

Incluindo fatores genéticos, idade, ambiente, e estilo de vida

Fornecendo uma poderosa plataforma para a descoberta de biomarcadores para melhorar o monitoramento diagnóstico e terapêutico.

INTRODUÇÃO

✓ Metabolômica



INTRODUÇÃO

✓ Metabolômica



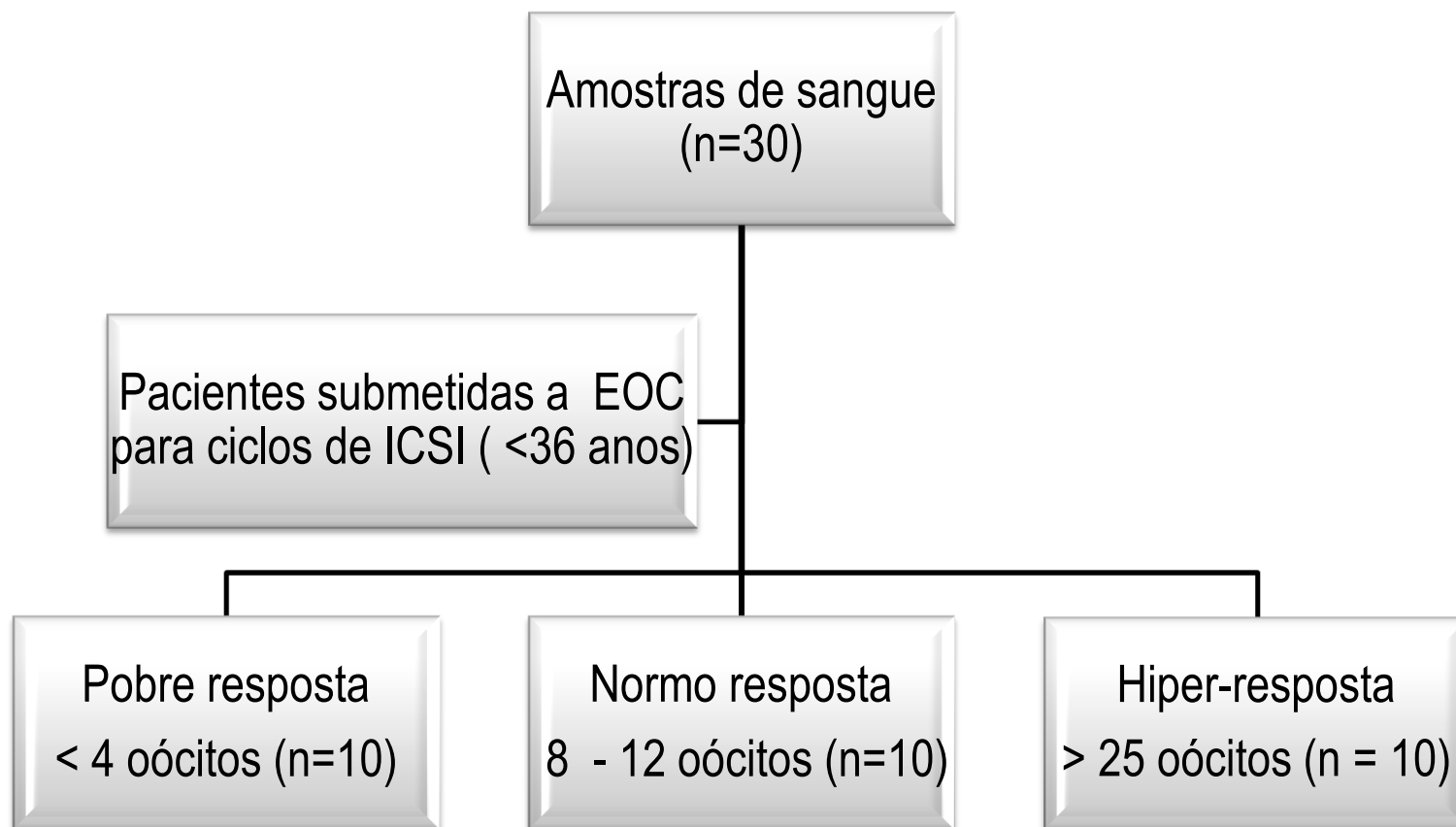
HIPÓTESE

- O estudo de moléculas sinalizadoras no sangue, como metabólitos, seria uma ferramenta diagnóstica útil para prever a resposta ao estímulo ovariano controlado

OBJETIVO

- Identificar potenciais metabólitos biomarcadores da resposta ovariana no soro de pacientes submetidas ao EOC para ciclos de reprodução assistida.

MATERIAL E MÉTODOS



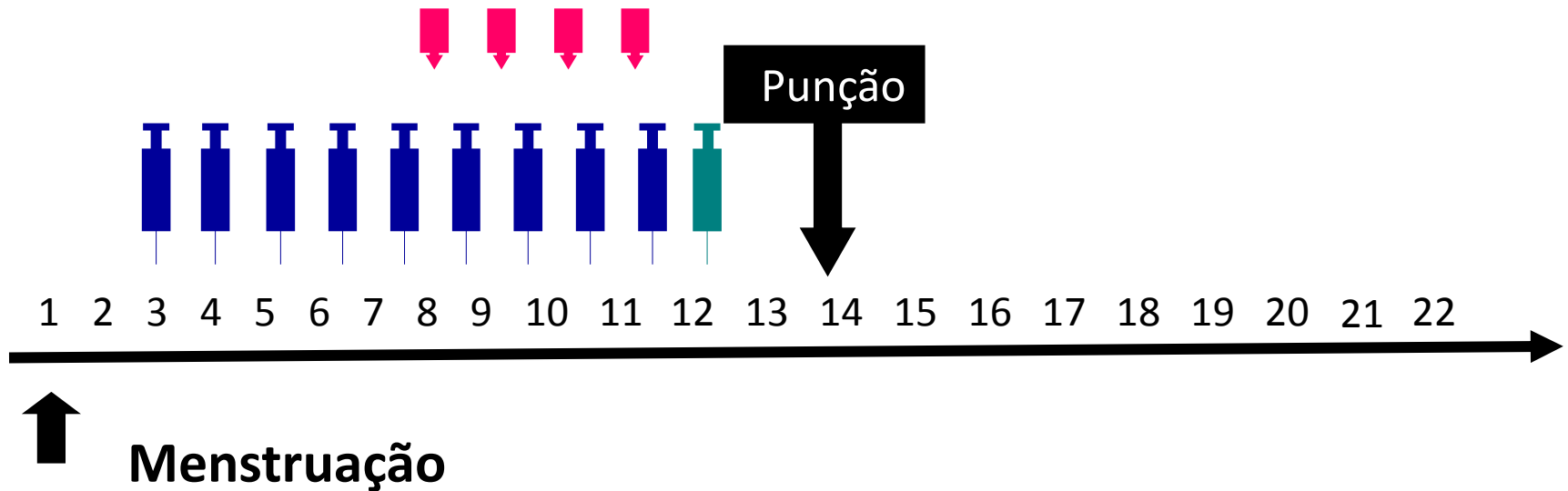
MATERIAL E MÉTODOS

✓ Estímulo ovariano controlado

- Antagonista do GnRH
- FSH recombinante
- hCG recombinante



E2

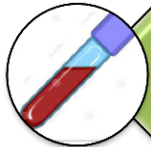


FERTILITY



MATERIAL E MÉTODOS

✓ Preparo da amostras, extração de metabólitos e EM



Amostras de sangue coletadas anteriormente ao EOC



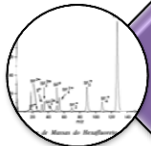
Centrifugadas para obtenção do soro e armazenadas a -20°C



Extração dos metabólitos por metanol/clorofórmio



Amostras injetadas no EM no modo de ionização positivo



Dados foram adquiridos na faixa massa/carga de 50 a 1200 daltons



FERTILITY

MATERIAL E MÉTODOS



✓ Análise dos dados clínicos

Características dos ciclos, dados clínicos e dados laboratoriais

Normalidade

Shapiro wilk

Homogeneidade

Levenne

Normalização por z score

Comparação por ANOVA

MATERIAL E MÉTODOS

- ✓ Análise dos dados de EM

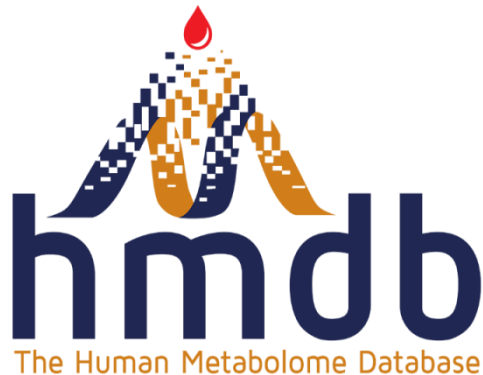
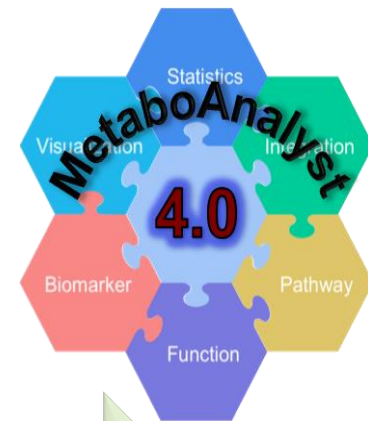
Análises
multivariadas

Normalização
dos dados por
 Log^2

PCA
Análise de
Componentes
Principais

VIP scores

Curva ROC



Atribuição dos metabólitos a partir dos
valores de massas

RESULTADOS

Características das pacientes e dos ciclos para os grupos de Pobre Resposta (PR), Normo Resposta (NR) e Hiper Resposta (HR)

	PR (n=10)	NR (n=10)	HR (n=10)	p
Idade (anos)	33,88 ± 1,87	32,40 ± 2,75	31,30 ± 2,11	0,065
IMC (kg/m²)	25,04 ± 4,27	22,44 ± 2,50	25,50 ± 4,19	0,264
Dose total FSH (UI)	2383,33 ± 668,48	2550,00 ± 469,87	2495,00 ± 584,38	0,825
Nível de Estradiol (pg/ml)	913,00 ± 415,80 ^a	1818,00 ± 1073,19 ^b	3901,00 ± 770,74 ^c	0,003
Folículos aspirados (n)	3,50 ± 0,85 ^a	11,20 ± 1,03 ^b	50,40 ± 22,24 ^c	<0,001
Oócitos recuperados (n)	2,80 ± 0,92 ^a	9,70 ± 1,49 ^b	36,50 ± 4,45 ^c	<0,001
Recuperação oocitária (%)	82,50 ± 23,71	86,82 ± 11,84	81,03 ± 24,98	0,816
Oócitos maduros (n)	2,40 ± 0,84 ^a	7,30 ± 1,56 ^b	23,80 ± 5,09 ^c	<0,001

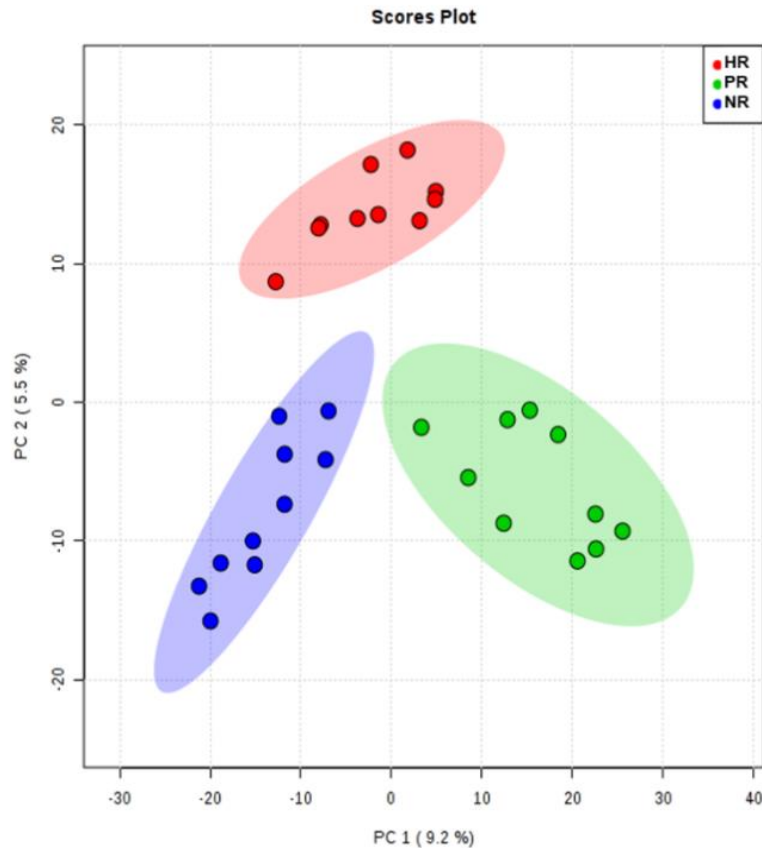
RESULTADOS

Características das pacientes e dos ciclos para os grupos de Pobre Resposta (PR), Normo Resposta (NR) e Hiper Resposta (HR)

	PR (n=10)	NR (n=10)	HR (n=10)	p
Idade (anos)	33,88 ± 1,87	32,40 ± 2,75	31,30 ± 2,11	0,065
IMC (kg/m ²)	25,04 ± 4,27	22,44 ± 2,50	25,50 ± 4,19	0,264
Dose total FSH (UI)	2383,33 ± 668,48	2550,00 ± 469,87	2495,00 ± 584,38	0,825
Nível de Estradiol (pg/ml)	913,00 ± 415,80 ^a	1818,00 ± 1073,19 ^b	3901,00 ± 770,74 ^c	0,003
Folículos aspirados (n)	3,50 ± 0,85 ^a	11,20 ± 1,03 ^b	50,40 ± 22,24 ^c	<0,001
Oócitos recuperados (n)	2,80 ± 0,92 ^a	9,70 ± 1,49 ^b	36,50 ± 4,45 ^c	<0,001
Recuperação oocitária (%)	82,50 ± 23,71	86,82 ± 11,84	81,03 ± 24,98	0,816
Oócitos maduros (n)	2,40 ± 0,84 ^a	7,30 ± 1,56 ^b	23,80 ± 5,09 ^c	<0,001

RESULTADOS

Análise de componentes principais (PCA) mostrando a disposição dos perfis metabólitos individuais, considerando-se os componentes 1 e 2



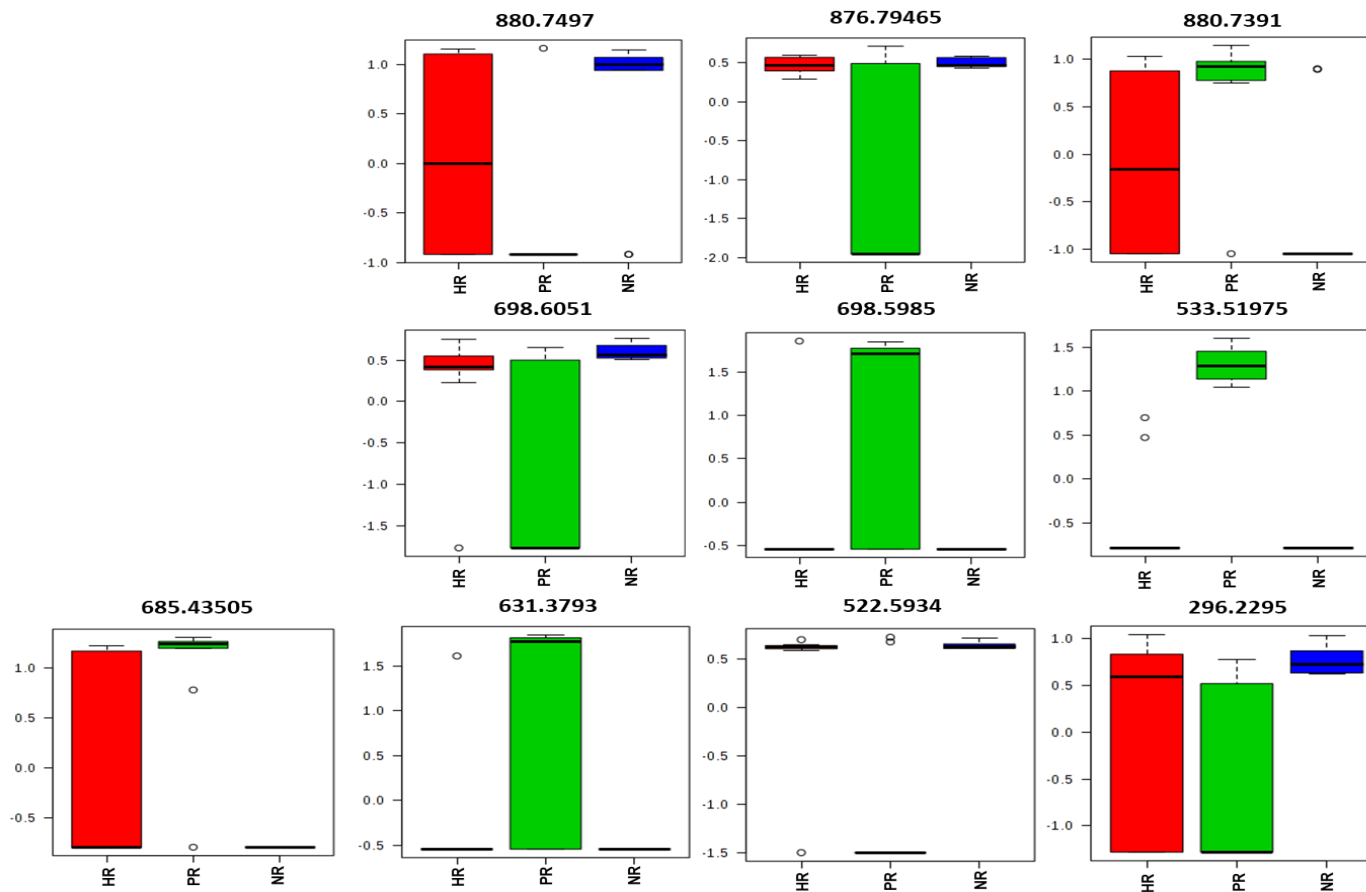
10 íons que mais contribuíram para o modelo estabelecido pelo PCA foram selecionados



FERTILITY

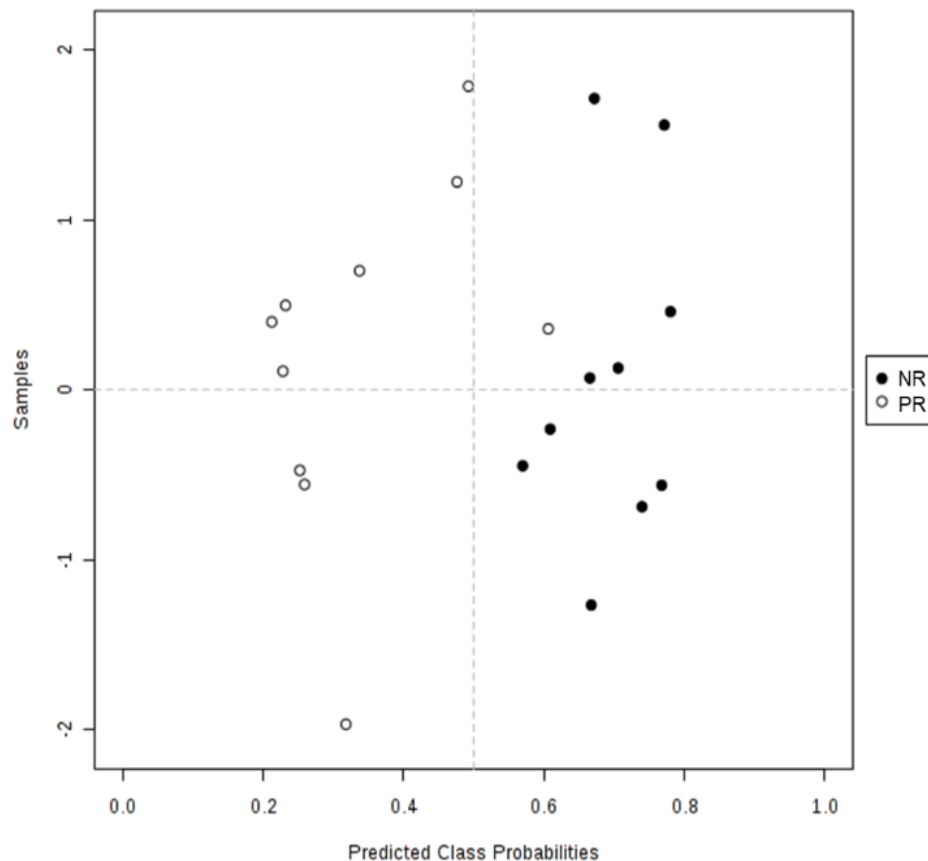
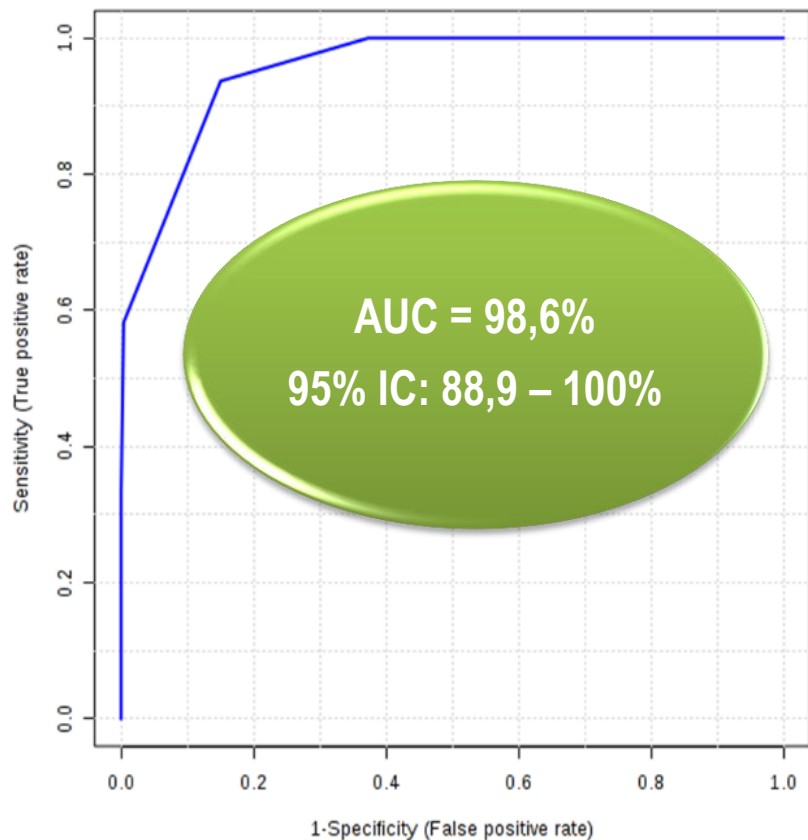
RESULTADOS

Gráfico Box-plot referente às abundâncias relativas de biomarcadores individuais



RESULTADOS

Curva ROC e probabilidades previstas de classe para grupos NR e PR



RESULTADOS



DISCUSSÃO

Identificação de metabólitos que podem ser marcadores moleculares da resposta ovariana

Distinção clara entre grupos NR, PR e HR

10 íons potenciais biomarcadores

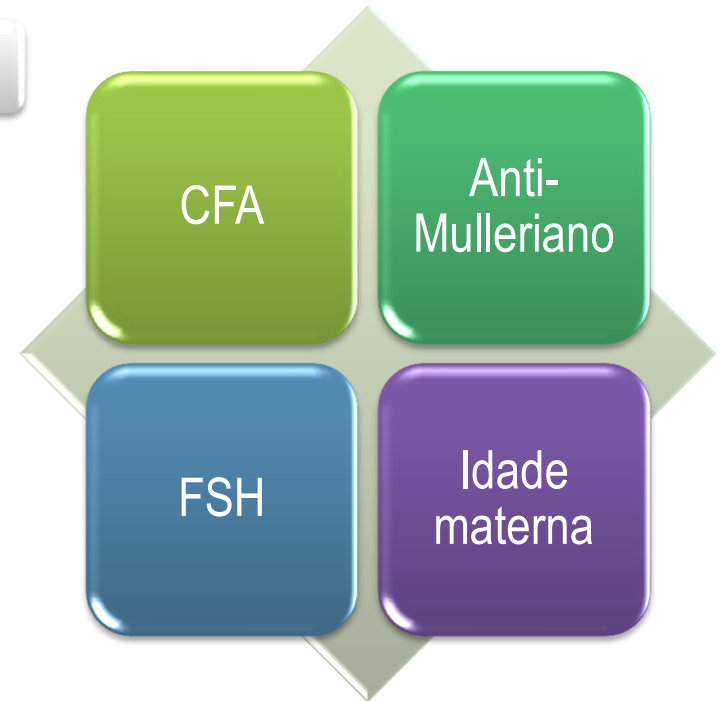
Predição de 98,6% para os grupos NR e PR

EOC individualizado



FERTILITY

DISCUSSÃO



Caro
Robusto
Complicado
Difícil acesso

Novas plataformas
Disponível em centros
cirúrgicos
Em breve disponível
para centros de RA



FERTILITY

CONCLUSÃO

Metabólitos do soro podem ser biomarcadores da resposta ovariana ao estímulo ovariano controlado

A metabolômica é uma ferramenta rápida, confiável e não invasiva

A predição da resposta ovariana prévia ao tratamento permite um tratamento individualizado

Estudos futuros serão realizados para validação dos novos biomarcadores



FERTILITY[®]
MEDICAL GROUP



FERTILITY

www.fertility.com.br